

УДК: (616-002.2+616.153.962.4-008):616.61-008.64-036.17-78

Сторожук О. Б., Селезньова І. Б., Сторожук Л. О., Сторожук Б. Г., Довгалюк Т. В.

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ХРОНІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА РІВЕНЬ ФІБРИНОГЕНУ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК V Д СТ., ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ЛІКУВАННЯ МЕТОДОМ ПРОГРАМНОГО ГЕМОДІАЛІЗУ

Науково-дослідний інститут реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (м. Вінниця)

reab@ukr.net

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи «Обґрунтувати наукові підходи до визначення складових реабілітаційного потенціалу у хворих на хронічну хворобу нирок I-V Д, Т», державний реєстраційний номер 0116U001421.

Вступ. Термінальна стадія хронічної хвороби нирок (ХХН) V Д стадії є значною соціально-економічною проблемою в усьому світі. За сучасними статистичними даними хронічні захворювання нирок зустрічаються у 10% дорослого населення, а до 7% цих хворих щорічно потребують лікування методами замісної ниркової терапії (ЗНТ) [1]. Темпи збільшення кількості пацієнтів з ХХН перевищують у 5 разів такі приросту населення та не залежать від економічного стану держав [5].

На сучасному етапі розвитку медицини, коли завдяки впровадженню нових ефективних сучасних діалітичних технологій і методів медикаментозної корекції значно подовжується тривалість життя хворих з хронічною хворобою нирок на діалізі, все більшу актуальність набуває проблема адекватної лабораторної діагностики для оцінки прогресування та перебігу термінальної ХХН та прогнозу ускладнень, що дало б змогу зменшити кількість різноманітних ускладнень [6].

Важливу роль при ХХН відіграє хронічне запалення як наслідок складних метаболічних та імунологічних порушень внаслідок уремії та рекомпенсації багатьох захисних систем організму, що прямо пов'язані з процедурою гемодіалізу. Хронічне запалення є причиною розвитку прискореного атеросклерозу, структурно-функціональних змін з боку серцево-судинної системи, а також в системі гемостазу [4]. Найбільш значні зміни в системі гемостазу спостерігаються при порушенні функції нирок на тлі хронічного гломерулонефриту, які стосуються як морфологічних елементів (цитокіни, пептиди, гормони), так і функціональних компонентів (антикоагулянти, прокоагулянти). Значення нирок в здійсненні рівноваги про- та антикоагулянтної системи давно відомі, так, нирки виробляють та виділяють в кров фактори згортання крові (VII, VIII, IX, X та тромбoplastин) та протизгортаючі фактори (гепарин, урокіназа, тканинний активатор плазміногену), а також інгібітори фібринолізу. Нирки можуть поглинати та катаболізувати фібриноген та XII фактор.

Ризик тромботичних ускладнень та смертність у хворих з ХХН зростає зі ступенем ниркової недостатності та досягає максимуму у хворих на діалізі. Одним із важливих компонентів гіперкоагуляції є

глікопротеїн-фібриноген, на рівні якого впливає як активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, так і хронічне запалення. Фібриноген – єдиний білок гострої фази згортання, що під дією тромбіну перетворюється у фібрин, та є показником гіперкоагуляції.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу показників хронічного запалення (С-реактивний протеїн та інтерлейкіни IL-1 та IL-18) на рівень фібриногену у хворих ХХН V Д стадії з хронічним гломерулонефритом, що перебувають на програмному гемодіалізі.

Об'єкт і методи дослідження. В дослідженні (за інформованої згоди) взяли участь 88 хворих, що перебувають на програмному гемодіалізі з приводу ХХН V Д ст. на тлі хронічного гломерулонефриту, віком від 26 до 65 років. Середній строк перебування на гемодіалізі склав $7,41 \pm 1,01$ року.

Збір крові для аналізів проводили перед гемодіалізом, натщесерце з вени у вакутайнер з 3,8% розчином цитрату натрію, який змішували з кров'ю у співвідношенні 1:9. Осадження формених елементів крові проводили центрифугуванням протягом 10 хв. з прискоренням 1200-1400 г. Плазму крові (супернатант) переносили в пробірку Епіндорфа. Визначення вмісту фібриногену в плазмі крові проводили з використанням тромбіноподібного ферменту анцистрона-Н, отриманого з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) [3]. Для цього в скляну пробірку вносили 0,2 мл досліджуваної плазми і 1,7 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,0), потім в суміш додавали 0,1 мл тромбіну – 2НІН і 0,1 мл 0,04 М моноіодоцтової кислоти. Суміш ретельно перемішували скляною паличкою з притертою поверхнею, і пробірку ставили в термостат (37°C), залишаючи в ній паличку. Після 30 хв. інкубації утворений згусток фібрину виймали шляхом викручування на паличку та віджимали рідину, натискаючи на стінку пробірки. В подальшому згусток на паличці декілька разів промивали в холодному розчині хлористого натрію, рідину видаляли з поверхні дотиком фільтрувального паперу. Згусток розчиняли в 5 мл 1,5% розчину оцтової кислоти. Концентрацію протеїну в отриманому розчині визначали на спектрофотометрі (Thermo Multi-Skan EX) при довжині хвилі 280 і 320 нм.

Вміст інтерлейкінів (IL-1 β та IL-18) в плазмі крові визначали імуноферментним методом з використанням набору «Интерлейкин-ИФА-БЕСТ». В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до IL, додавали по 100 мкл фосфатно-сольового бу-

ферного розчину, 100 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями IL-0, 5, 6, 16, 7, 50, 150, 300 нг/мл), контрольних проб та проб плазми крові. Інкубацію проводили протягом двох годин при t 37°C. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них 100 мкл кон'югату антитіл до IL з біотином та інкубували 1 годину при t 37°C. Потім лунки знову відмивали від надлишку незв'язаних реагентів і вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин пероксидаза хрому) та інкубували 30 хвилин при t 37°C. Потім знову лунки відмивали від надлишку реагентів і вносили 100 мкл хромогену-тетраметилбензидину (ТМВ-субстрату) та інкубували 30 хвилин при t 18-25°C в темноті. Реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Визначення кількісного вмісту С-реактивного білка (СРБ) в плазмі крові проводили при допомозі «СРБ-латекс-тесту» за принципом латексної аглютинації.

Результати досліджень та їх обговорення.

Встановлено, що рівень СРБ був підвищений у 17% хворих ($n=15$), що перебували на гемодіалізі, і складав в середньому $16,8 \pm 0,89$ мг/л. У всіх інших хворих цей показник не перевищував концентрації 6 мг/л. Аналіз цієї групи показав, що 84% хворих мали анемію III ст., 12% – II ст. і 4% – I ст., а також значно підвищений рівень парат-гормону ($287,4 \pm 59,3$ нг/мл при нормі – $9,5 \pm 7,5$ нг/мл) і симптоматичну гіпертензію (за даними історії хвороби). Середній строк перебування на гемодіалізі в групі становив $7,8 \pm 0,9$ років.

Рівень інтерлейкінів (IL-1, IL-18) в загальній групі діалітичних хворих виявився значно підвищеним – $100,47 \pm 9,30$ нг/мл та $199,44 \pm 11,06$ нг/мл відповідно, що на порядок вище нормальних показників та узгоджується з даними літератури [2]. В групі хворих з підвищеним рівнем СРБ показники цих цитокінів були достовірно нижчими, ніж в загальній групі,

і складала відповідно $78,39 \pm 8,04$ нг/мл для IL-1 та $167,64 \pm 10,47$ нг/мл для IL-18 ($p < 0,05$). Останній факт може мати своє пояснення в тому, що у пацієнтів з діалітичним анамнезом, більшим за 5-7 років, відбувається виснаження резервних можливостей імунної відповіді [7].

Показники фібриногену в загальній групі хворих, що лікуються діалізом, був достовірно вищий за норму ($2,5 \pm 3,0$ г/л) і складав $4,21 \pm 0,2$ г/л ($p < 0,01$), тоді як в групі з підвищеним рівнем СРБ його рівень ще збільшувався, до $4,85 \pm 0,18$ г/л ($p < 0,05$). Така реакція фібриногену не є несподіваною, оскільки відома його роль в процесах патологічного запалення.

Аналіз корелятивних зв'язків прозапальних цитокінів з рівнем СРБ показав, що як IL-1, так і IL-18 мають середній зворотній зв'язок з СРБ ($r = -0,37$ та $r = -0,34$ відповідно).

При дослідженні кореляції фібриногену з СРБ було встановлено високий позитивний зв'язок цих показників ($r = 0,71$), тоді як кореляційний зв'язок фібриногену з інтерлейкінами був зворотнім та слабким і склав, відповідно, $r = -0,27$ та $r = -0,21$ для IL-1 та IL-18.

Висновки

1. У хворих з ХХН V Д стадії процес хронічного запалення присутній постійно, про що свідчить рівень IL-1 та IL-18.

2. СРБ є показником швидкої фази запалення у 17% хворих що лікуються діалізом.

3. Високий кореляційний зв'язок рівня фібриногену з СРБ може свідчити про загострення запальних процесів у хворих ХХН V Д ст. та використовуватися як предиктор для визначення групи ризику, зокрема з розвитку тромбоемболії.

Перспективи подальших досліджень полягають у поглибленому визначенні складових гемостазу у хворих на ХХН.

Література

1. Belov V.V. Dinamika pokazateley khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti u bol'nykh khronicheskoy bolezn'yu pochek pri pochechno-zamestitel'noy terapii / V.V. Belov, O.V. Il'icheva // Nefrologiya. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 35-39.
2. Dudar I.O. Khronichne zapalennya ta anemiya u khvorykh na KHKNH V st. / I.O. Dudar, V.Ye. Driyans'ka, V.N. Savchuk, O.M. Loboda, Yu.I. Honchar, I.M. Shyfris, V.F. Krot, E.K. Krasyyuk // Ukrayins'kyi zhurnal nefrolohiyi ta dializu. – 2017. – № 3, Т. 55. – С. 84-85.
3. Sovremennyye predstavleniya o sisteme gemostaza / G.L. Volkov, T.N. Platonova, A.N. Savchuk, O.V. Gornitskaya, T.M. Chernyshenko, Ye.M. Krasnobryzha. – Kiyev: Naukova dumka, 2005. – 292 s.
4. Soroka N.F. Rol' aktivatsii tsitokinov v razvitii i progressirovani khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti / N.F. Soroka, T.S. Zybalo // Meditsynskiye novosti. – 2003. – № 1. – С. 12-15.
5. Apostolou T. Quality of life in HD patients. Use of a gene and a renal disease specific instrument / T. Apostolou, P. Vrissis, A. Pouloupoulos, W. Chak // Nephrol. Dial. Transplant. – 2002. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. 296-297.
6. Bragg-Gresham J.L. Diuretic Use Residual Renal Function, and Mortality Among Hemodialysis Patients in the Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study (DOPPS) / J.L. Bragg-Gresham, R.B. Fissel, N.A. Mason, G.R. Bailie, B.W. Gillespie, V. Wizeman, Y.M. Cruz, T. Akiba, K. Kurokawa, S. Ramirez, E.W. Young // Am. J. Kidney Dis. – 2007. – № 49. – P. 426-431.
7. Tetta C. Production of cytokines in hemodialysis / C. Tetta, G. Camussi, E. Turello, M. Solomone, G. Aimo, G. Priolo, G. Segoloni, A. Vercellone // Blood Purif. – 1998. – № 6. – P. 337-346.

УДК (616-002.2+616.153.962.4-008):616.61-008.64-036.17-78

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ХРОНІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА РІВЕНЬ ФІБРИНОГЕНУ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК V Д СТ., ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ЛІКУВАННЯ МЕТОДОМ ПРОГРАМНОГО ГЕМОДІАЛІЗУ Сторожук О. Б., Селезньова І. Б., Сторожук Л. О., Сторожук Б. Г., Довгалюк Т. В.

Резюме. У хворих з термінальною стадією хронічної хвороби нирок (ХХН) формуються незворотні негативні зміни з боку всіх органів та систем, пов'язані як з важкістю функціональних порушень, так і з прове-

денням процедури гемодіалізу. Важливу роль при ХХН відіграє хронічне запалення, яке є наслідком складних метаболічних та імунологічних змін. Ризик тромботичних ускладнень хворих на ХХН зростає зі ступенем ниркової недостатності та досягає максимуму у хворих на діалізі. Проведено обстеження 88 хворих, які лікувалися програмним гемодіалізом, з визначенням впливу показників хронічного запалення С-реактивного протеїну та інтерлейкіни IL-1, IL-18) на рівень фібриногену у хворих ХХН V Д ст. внаслідок хронічного гломерулонефриту.

Ключові слова: ХХН V Д ст., хронічне запалення, цитокіни, фібриноген.

УДК (616-002.2+616.153.962.4-008):616.61-008.64-036.17-78

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ И УРОВЕНЬ ФИБРИНОГЕНА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК V Д СТ., КОТОРЫЕ ПОЛУЧАЮТ ЛЕЧЕНИЕ МЕТОДОМ ПРОГРАММНОГО ГЕМОДИАЛИЗА

Сторожук О. Б., Селезнева И. Б., Сторожук Л. А., Сторожук Б. Г., Довгалиук Т. В.

Резюме. У больных с терминальной стадией хронической болезни почек (ХБП) формируются необратимые негативные изменения со стороны всех органов и систем, связанные как с тяжестью функциональных нарушений, так и с проведением процедуры гемодиализа. Важную роль при ХБП играет хроническое воспаление, которое является следствием сложных метаболических и иммунологических изменений. Риск тромботических осложнений больных ХБП растет со степенью почечной недостаточности и достигает максимума у больных на диализе. Проведено обследование 88 больных, лечившихся программным гемодиализом, с определением влияния показателей хронического воспаления (С-реактивный протеин и интерлейкины IL-1, IL-18) на уровень фибриногена у больных ХБП V Д ст. вследствие хронического гломерулонефрита.

Ключевые слова: ХБП V Д ст., хроническое воспаление, цитокіни, фибриноген.

UDC (616-002.2+616.153.962.4-008):616.61-008.64-036.17-78

SOME INDICATORS OF CHRONIC INFLAMMATION AND THE LEVEL OF FIBRINOGEN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE V D ST. RECEIVING TREATMENT BY PROGRAMMED HEMODIALYSIS

Storozhuk O. B., Selezneva I. B., Storozhuk L. O., Storozhuk B. G., Dovgalyuk T. V.

Abstract. The terminal stage of chronic kidney disease (CKD) of the V D stage is a significant socioeconomic problem throughout the world. According to modern statistical data, chronic kidney diseases occur in 10% of the adult population, and up to 7% of these patients need to be treated annually by the methods of renal replacement therapy. The growth rate of the number of patients with CKD is 5 times higher than that of the population.

An important role in CKD is played by chronic inflammation, which is a consequence of complex metabolic and immunological disorders due to uremia and recompensation of many body defense systems directly associated with the procedure of hemodialysis. Chronic inflammation is the cause of the development of accelerated atherosclerosis, structural and functional changes in the cardiovascular system, as well as in the hemostasis system. At the same time, changes in the hemostatic system concern both morphological elements (cytokines, peptides, hormones) and functional components (anticoagulants, procoagulants).

The risk of thrombotic complications and mortality in patients with CKD increases with the degree of renal failure and reaches a maximum in patients on dialysis. One of the important components of hypercoagulation is glycoprotein-fibrinogen, which affects the levels of both the activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and chronic inflammation. Fibrinogen is the only protein of the acute phase of coagulation, which turns into fibrin under the influence of thrombin and is an indicator of hypercoagulability.

Object and methods of research. In the study (under the informed agreement) 88 patients who were on program hemodialysis for CKD V D st. against a background of chronic glomerulonephritis, at the age of 26 to 65 years. The average length of stay on hemodialysis was 7.41 ± 1.01 years. The protein concentration, interleukins (IL-1 and IL-18) in the blood plasma were measured by an enzyme immunoassay using the Interleukin-IFA-BEST kit, and the quantitative content of the C-reactive protein (CRP) by the "CRP-latex test" by the principle of latex agglutination.

Analysis of the correlation of proinflammatory cytokines with the level of CRP showed that both IL-1 and IL-18 have an average feedback with CRP ($r = -0.37$ and $r = -0.34$, respectively). In the study of the correlation of fibrinogen with CRP, a high positive correlation of these indices ($r = 0.71$) was established, whereas the correlation between fibrinogen and interleukins was inverse and weak and was $r = -0.27$ and $r = -0.21$ respectively for IL-1 and IL-18.

Conclusions. In patients with CKD V D st., the process of chronic inflammation is constantly present, as indicated by the level of IL-1 and IL-18. A high correlation between the level of fibrinogen and CRP may indicate an exacerbation of inflammatory processes in patients with CKD V D st. and used as a predictor for the determination of a risk group, in particular for the development of thrombophilia.

Keywords: chronic kidney disease, chronic inflammation, cytokines, fibrinogen.

Рецензент – проф. Іванов В. П.

Стаття надійшла 10.08.2017 року